Über die Struktur von Verrucarin A

Verkürzte Fassung der

INAUGURALDISSERTATION

zur Erlangung der Würde eines Doktors der Philosophie
vorgelegt der
Philosophisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Universität Basel

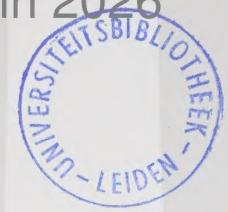
von

JÜRG GUTZWILLER
aus Basel

1965

Basel
Buchdruckerei Birkhäuser AG.
1965

Digitized by the Internet Archive
in 2026



https://archive.org/details/IA41546021_0025

Über die Struktur von Verrucarin A

Verkürzte Fassung der

INAUGURALDISSERTATION

zur Erlangung der Würde eines Doktors der Philosophie
vorgelegt der
Philosophisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Universität Basel

von

JÜRG GUTZWILLER
aus Basel

Basel
Buchdruckerei Birkhäuser AG.
1965

Genehmigt von der Philosophisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät auf Antrag der Herren Professoren Dr. CH. TAMM und Dr. C. GROB.

Basel, den 17. Dezember 1963

Prof. Dr. E. BAUMGARTNER
Dekan

Herrn JÜRG GUTZWILLER wurde von der Philosophisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität Basel am 17. Dezember 1963 erlaubt, diese verkürzte Fassung seiner am 17. Dezember 1963 genehmigten Inauguraldissertation drucken zu lassen. Die vollinhaltliche Arbeit mit dem Titel:

«*Über die Konstitution des Antibioticums Verrucarin A*»

kann eingesehen oder entliehen werden:

1. im Organisch-chemischen Institut der Universität Basel;
2. in der Universitätsbibliothek Basel;
3. in der Schweizerischen Landesbibliothek in Bern.

Separatabdruck aus Helvetica Chimica Acta, Volumen 48,
Fasciculus primus, 1965

Über die Struktur von Verrucarin A [1]

Verrucarin A ist eines der zahlreichen aus *Myrothecium*-Arten isolierten antifungisch und cytostatisch wirksamen Antibiotica [2]. Es ist der Hauptmetabolit mehrerer Stämme von *Myrothecium verrucaria* (ALBERTINI *et* SCHWEINITZ) DITMAR *ex* FRIES [2]. Verrucarin A besitzt nach den Elementaranalysen, den Massenspektren[1]) seines Acetylderivats und seines Hydrierungsprodukts (s. unten) sowie nach dem vaporometrisch und aus der Radioaktivität seines [^{14}C]-Acetyl- und [^{14}C]-Acetyl-hexahydro-Derivats (s. unten) bestimmten Molekulargewicht die Bruttoformel $C_{27}H_{34}O_9$. Auf Grund der im folgenden beschriebenen chemischen Reaktionen schlagen wir für Verrucarin A die Strukturformel **1** vor[2])[3]).

Funktionelle Gruppen. – Das UV.-Spektrum von Verrucarin A (**1**) zeigt ein intensives Absorptionsmaximum bei 260 nm[4]) ($\log\varepsilon = 4{,}25$) (vgl. Fig. 1 in [2]), und sein IR.-Spektrum ist durch eine C=O-Schwingung bei ca. 1710 cm^{-1} sowie durch C=C-Banden bei 1635 und 1590 cm^{-1} charakterisiert (vgl. Fig. 1). Das diesen Absorptionsmaxima zugrunde liegende chromophore System ist auf eine $\alpha,\beta,\gamma,\delta$-ungesättigte Estergruppierung zurückzuführen. Das IR.-Spektrum zeigt ausserdem eine Hydroxylbande bei 3540 cm^{-1}. Verrucarin A enthält nur eine einzige alkoholische Hydroxylgruppe, denn mit Acetanhydrid, Propionsäureanhydrid oder Benzoylchlorid in Pyridin wurden die Mono-O-acylderivate **2**, **3** und **4** erhalten, deren IR.-Spektren keine HO-Schwingungen mehr aufwiesen. Die bereits erwähnte Radioaktivität des mit [^{14}C]-Acetanhydrid bereiteten [^{14}C]-Esters **2a** bestätigte sowohl das Vorliegen von monoacylierten Derivaten wie auch die für Verrucarin A abgeleitete Summenformel. Damit im Einklang ist auch das NMR.-Spektrum von Mono-O-acetyl-verrucarin A (**2**) (vgl. Fig. 2). Die Hydroxylgruppe ist verantwortlich für das nach ZEREWITINOFF nachweisbare aktive H-Atom. Sie ist sekundär, denn bei der Behandlung von **1** mit CrO_3–H_2SO_4 in Aceton [6] entstand das neutrale Dehydroverrucarin A (**25**) (s. unten), dessen IR.-Spektrum (vgl. Fig. 7) keine Hydroxylbande mehr zeigte und dessen

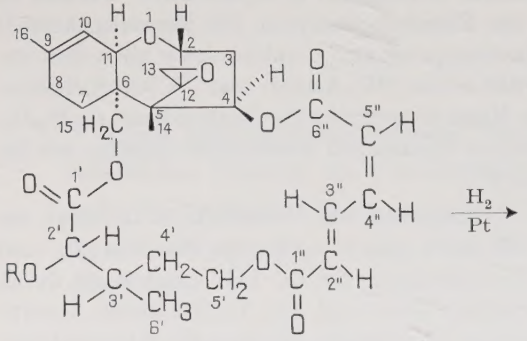
[1]) Wir danken Herrn Prof. Dr. K. BIEMANN, MIT, Cambridge, Mass., USA, bestens für die Messungen.

[2]) Ein Teil der hier mitgeteilten Ergebnisse war Gegenstand einer vorläufigen Mitteilung, in der für Verrucarin A eine Partialstruktur abgeleitet werden konnte [3].

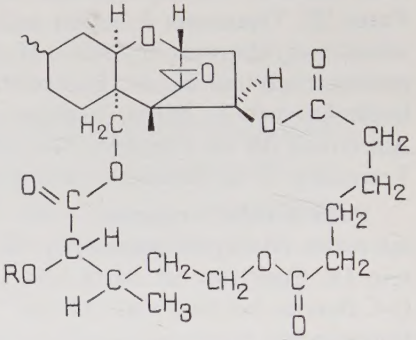
[3]) Bei dem kürzlich von VITTIMBERGA [4] ebenfalls aus Kulturfiltraten von *Myrothecium verrucaria* isolierten Muconomycin A dürfte es sich nach den mitgeteilten chemischen und physikalischen Eigenschaften – es handelt sich im wesentlichen um eine Wiederholung von Resultaten, die wir bereits publiziert hatten [3] [5] – um ein unreines Präparat von Verrucarin A (vermutlich noch Verrucarin B oder/und Verrucarin J enthaltend) handeln. Ein direkter Vergleich war leider bisher nicht möglich. Jedenfalls stellt Muconomycin A keine neue Verbindung dar. Der Gebrauch der Endung «mycin» für einen nicht aus Actinomyceten stammenden Metaboliten scheint uns nicht empfehlenswert.

[4]) Den neuen IUPAC-Regeln entsprechend, wird in den «Helvetica Chimica Acta» ab 1965 die bisherige Bezeichnung mμ durch nm (= Nanometer) ersetzt.

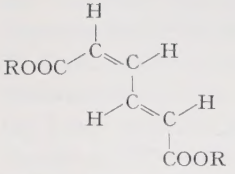
NMR.-Spektrum (vgl. Fig. 8) keine Aldehydgruppe erkennen liess. Das NMR.-Spektrum von Verrucarin A (vgl. Tab.) und von Mono-O-acetyl-verrucarin A (vgl. Fig. 2 und Tab.) liess drei verschieden strukturierte Methylgruppen erkennen, nämlich eine tertiäre als Singlett bei 9,15 bzw. 9,13 τ, eine sekundäre als Dublett bei 9,11 bzw. 8,88 τ mit der Kopplungskonstante $J = 7$ cps, sowie eine, die an einer olefinischen Doppelbindung haftet, da ihr Signal bei tieferem Feld als Singlett bei 8,24 bzw. 8,26 τ auftritt. Im Gebiet von 1,5–4,1 τ waren zahlreiche Vinylprotonen zu erkennen. Ihre Zuordnung und die Interpretation der weiteren Signale dieser komplexen NMR.-Spektren wird weiter unten erfolgen. – Bei der katalytischen Hydrierung von Verrucarin A mit Pt in Eisessig oder Pd–C in Äthanol entstand Hexahydroverrucarin A (**5**).



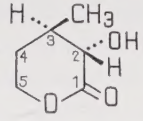
1 R = H: Verrucarin A
2 R = $COCH_3$
2a R = [^{14}C]–$COCH_3$
3 R = COC_2H_5
4 R = COC_6H_5



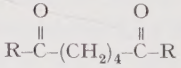
5 R = H: Hexahydroverrucarin A
6 R = $COCH_3$
6a R = [^{14}C]–$COCH_3$



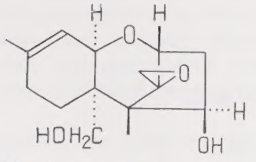
7 R = H: *cis, trans*-Muconsäure
8 R = CH_3



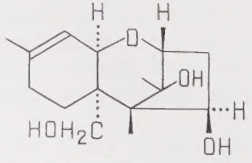
9 Verrucarinolacton



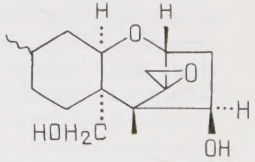
10 R = OH: Adipinsäure
11 R = NH · CO · C_6H_5



12 Verrucarol



13 Dihydroverrucarol B



14 Dihydroverrucarol A

5 zeigte im UV. keine selektive Absorption mehr. Im IR.-Spektrum waren die C=C-Schwingungen verschwunden und die Carbonylbande nach ca. 1725 cm^{-1} verschoben. Das NMR.-Spektrum liess keine Vinylprotonen mehr erkennen, und an Stelle des Methylsingletts von 8,24 τ war ein Dublett einer sekundären Methylgruppe bei 9,15 τ getreten. Auch Hexahydroverrucarin A lieferte ein Mono-O-acetylderivat **6**, das gegen CrO_3 bei 22° beständig war. Die Radioaktivität des entsprechenden [^{14}C]-Acetyl-hexahydroderivats **6a** bestätigte erneut die für Verrucarin A abgeleitete Bruttoformel. **6** wurde auch durch katalytische Hydrierung von Mono-O-acetyl-verrucarin A erhalten. – Sowohl Verrucarin A (**1**) als auch Hexahydroverrucarin A (**5**) waren gegen HJO_4 beständig und zeigten keine reduzierenden Eigenschaften.

Hydrolytische Spaltung. – Weiteren Einblick in die Struktur von Verrucarin A (**1**) gestattete die basenkatalysierte Hydrolyse. Bei der Behandlung mit 0,6 N K_2CO_3 in wässerigem Methanol bei 22° liess sich Verrucarin A quantitativ in drei Bruchstücke spalten. Es bildeten sich die bekannte *cis,trans*-Muconsäure (**7**), ein unbekanntes Lacton, das Verrucarinsäurelacton genannt wird und das die Konstitution **9** besitzt (Beweis siehe unten), sowie ein unbekannter Alkohol, der als Verrucarol (**12**) bezeichnet wird. Hexahydroverrucarin A (**5**) ergab bei der analogen Hydrolyse mit wässerig-methanolischem KOH Adipinsäure (**10**), wieder Verrucarinsäurelacton (**9**) und statt Verrucarol das Dihydroverrucarol A (**14**). Verrucarin A konnte auch reduktiv mit Hilfe von $LiAlH_4$ gespalten werden. Es entstand Dihydroverrucarol B (**13**); die beiden anderen Spaltstücke wurden nicht näher untersucht.

Konstitution der Spaltstücke. – a) *Verrucarol* ist ein neuer Sesquiterpenalkohol $C_{15}H_{22}O_4$, für den wir kürzlich die Strukturformel **12** bewiesen haben [1]. Auch die Konstitution der beiden Dihydroverrucarole A und B, **14** bzw. **13**, ist aufgeklärt worden [1].

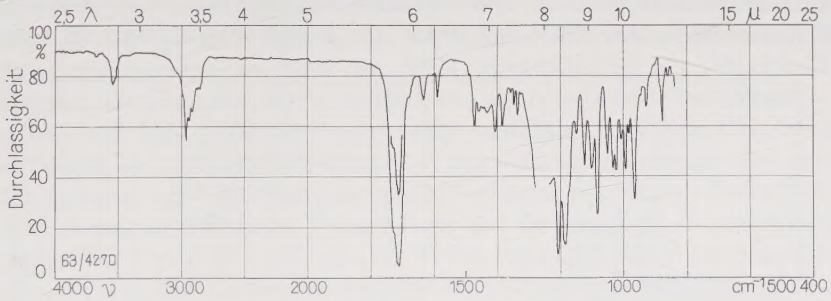


Fig. 1. *IR.-Absorptionsspektrum von Verrucarin A* (*1*) *in Methylenchlorid*[5]) (vgl. auch [2])

b) cis,trans-*Muconsäure* (**7**): Von den drei geometrischen Isomeren der Muconsäure, $C_6H_6O_4$, ist bekanntlich die *trans,trans*-Form thermodynamisch am stabilsten. Die *cis,cis*- und die *cis,trans*-Muconsäuren isomerisieren sich beim Erwärmen in wässeriger Lösung oder bei der Bestrahlung mit UV.-Licht zur *trans,trans*-Muconsäure [8]. Wird Verrucarin A (**1**) bei erhöhter Temperatur hydrolysiert (z.B. durch Erhitzen mit 1N KOH in wässerigem Methanol unter Rückfluss), so kann man in-

[5]) Aufgenommen mit einem PERKIN-ELMER-Gitterspektrophotometer, Modell 125, im Spektrallaboratorium unseres Instituts (CH. SENN und W. SCHWAB).

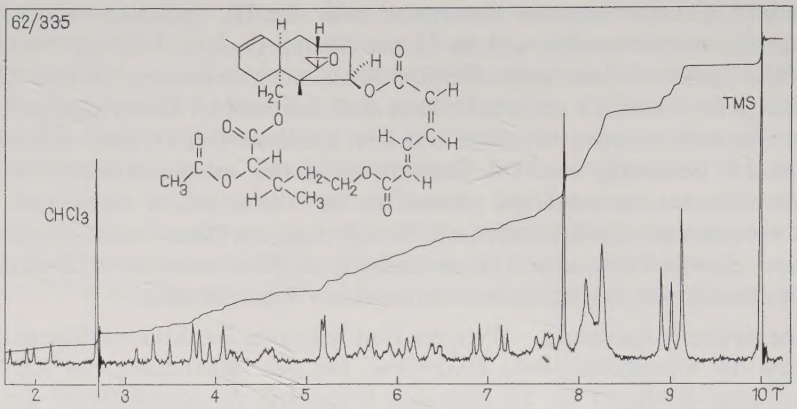


Fig. 2. *NMR.-Spektrum von Mono-O-acetyl-verrucarin A* (**2**) *in Deuterochloroform*[6])

folgedessen nur die *trans,trans*-Muconsäure vom Smp. 300° isolieren. Die drei isomeren Muconsäuren weisen in den IR.- und UV.-Spektren keine signifikanten Unterschiede auf [9], doch lassen sie sich leicht durch die Schmelz- und Mischschmelzpunkte ihrer Dimethyl- und Dibenzhydryl-ester [9] sowie auf Grund ihrer NMR.-Spektren [10] differenzieren. Die unter milden Hydrolysenbedingungen aus Verrucarin A isolierte *cis,trans*-Muconsäure zeigte im UV. ein Absorptionsmaximum bei 259,5 nm[6]) ($\log \varepsilon = 4{,}63$). Die gleiche selektive Absorption tritt auch im intakten Antibioticum **1** auf. Das IR.-Spektrum von **7** zeigte die erwarteten assoziierten Hydroxylbanden bei 2650–2500 cm^{-1}, C=O-Schwingungen bei 1680 cm^{-1} und die konjugierten C=C-Banden bei 1630 und 1610 cm^{-1}. Die katalytische Hydrierung ergab Adipinsäure (**10**), die zur weiteren Identifizierung in das Dianilid **11** übergeführt wurde. Bei der Behandlung mit Diazomethan in Äther-Methanol lieferte **7** den *cis,trans*-Muconsäure-dimethylester (**8**)[7]). Das NMR.-Spektrum von **8** (vgl. Fig. 3) zeigt im Gebiet der

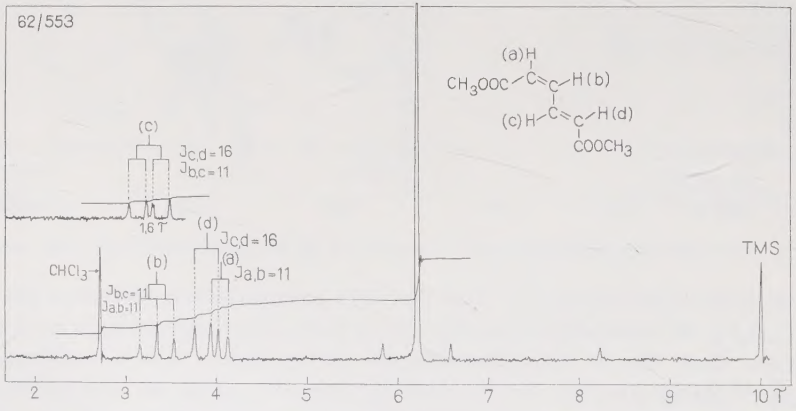


Fig. 3. *NMR.-Spektrum von* cis, trans-*Muconsäure-dimethylester* (**8**) *in Deuterochloroform*[6])

[6]) Aufgenommen mit einem VARIAN-Spektrometer A-60 (60 MHz) im physikal.-chem. Laboratorium der SANDOZ AG, Basel (Dres. K. FREI und P. NIKLAUS). Chemische Verschiebungen in τ-Werten nach TIERS [7], mit $Si(CH_3)_4$ (TMS) als internem Standard.

Vinylprotonen eine charakteristische, asymmetrische Anordnung von 11 Signalen, die zum Teil noch schwache Aufspaltung infolge von Kopplungen über mehr als drei Bindungen («long range coupling») aufweisen. Sie unterscheidet sich vom symmetrischen A_2X_2-System der vier Vinylprotonen der *cis,cis*- und der *trans,trans*-Muconsäure-dimethylester deutlich [10] [11]. Die Zuordnung der Signale ist in Fig. 3 eingezeichnet. Da die Vinylprotonen in den NMR.-Spektren von Verrucarin A und seinen nichthydrierten Derivaten (vgl. z. B. Fig. 2 von **2**) das gleiche 11-Linien-Spektrum wie diejenigen des *cis,trans*-Muconsäure-dimethylesters aufweisen, muss die Muconsäure auch im genuinen Antibioticum in der *cis,trans*-Form vorliegen. Keine der drei isomeren Muconsäuren ist unseres Wissens bisher als Baustein eines Pilzmetaboliten angetroffen worden.

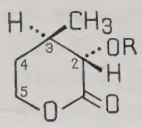
c) *Verrucarinsäurelacton* (**9**): Nach dem vaporometrisch bestimmten Mol.-Gewicht und den Elementaranalysen besitzt die gut kristallisierende Verbindung die Formel $C_6H_{10}O_3$. Das UV.-Spektrum zeigte keine selektive Absorption. Im IR.-Spektrum traten hingegen eine C=O-Schwingung bei 1735 cm^{-1}, die für ein gesättigtes δ-Lacton typisch ist, sowie eine Hydroxylbande bei 3530 cm^{-1} (vgl. Fig. 4) auf. Die Rücktitration einer wässerig-alkalischen Lösung mit Salzsäure ergab ein Äquiv.-Gewicht von 129. Auf Grund der weiteren Beobachtungen kommt dem Verrucarinsäurelacton die Konstitution **9** zu. Die Hydroxylgruppe war acylierbar; mit Acetanhydrid und Pyridin wurde aus **9** das Mono-O-acetylderivat **15** erhalten, das gegen CrO_3 beständig war. Verrucarinolacton (**9**) wurde von HJO_4 nicht angegriffen. Die Jodoformprobe fiel negativ aus. Mit $LiAlH_4$ liess es sich zum Triol **19** reduzieren, das ein Äquivalent HJO_4 verbrauchte, was auf eine Glykolgruppierung hinwies. Es lieferte das krist. Tri-O-(3,5-dinitrobenzoyl)-Derivat **20**[8]). Verrucarinolacton liess sich mit Benzhydrylamin in das krist. Benzhydrylamid **17** und mit Phenylhydrazin in das krist. Phenylhydrazid **18** überführen. **17** und **18** stellen Derivate der Verrucarinsäure (**16**) dar; sie erwiesen sich gegenüber HJO_4 als beständig. Dadurch wird die auf Grund der $LiAlH_4$-Reaktion noch mögliche γ-Stellung der sekundären Hydroxylgruppe ausgeschlossen und ihre α-Stellung bewiesen. Nach dem NMR.-Spektrum (vgl. Fig. 5)[8a]) enthält Verrucarinolacton eine sekundäre Methylgruppe, was aus dem Dublett bei 8,74 τ (J = 6 cps) zu ersehen war. Das NMR.-Spektrum zeigte weiterhin, dass diese CH_3-Gruppe mit C-3 verknüpft sein muss und nicht mit C-4, was nach allen bisherigen Befunden noch möglich gewesen wäre. Das H-Atom von C-2 erscheint nämlich als Dublett bei 6,13 τ mit einer Kopplungskonstante J von 10 cps und die sekundäre C-5-Methylengruppe als Triplett bei 5,65 τ (J = 5,5 cps). Die Hydroxylgruppe ergibt ein Signal bei 6,6 τ und die restlichen drei Gerüstprotonen treten als komplexes Multiplett bei ca. 8 τ auf. Die auffallend grosse Spin-Spin-Kopplungskonstante von J = 10 cps der beiden vicinalen Protonen von C-2 und C-3 lässt auf einen Valenzwinkel von 180° [12] und somit auf die bisaxiale *trans*-Stellung dieser beiden Wasserstoffatome schliessen. Daraus

---

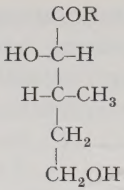
[7]) Der aus Verrucarin A (**1**) stammende Ester **8** schmolz bei 73–75°; Misch-Smp. mit authent. *cis, trans*-Muconsäure-dimethylester (Smp. 74–75°) ebenso; Misch-Smp. mit authent. *cis, cis*-Muconsäure-dimethylester (der praktisch gleich schmilzt): 50–65°, d.h. um ca. 20° erniedrigt.

[8]) Es war identisch mit einem synthetischen Präparat; vgl. spätere Mitteilung.

[8a]) Das NMR.-Spektrum eines α-Hydroxy-β-methyl-δ-valerolactous unbekannter Konfiguration ist bei VITTIMBERGA ((vgl. [3])) und im NMR.-Spectra Catalog, VARIAN ASSOCIATED, Palo Alto, Calif., U.S.A., Vol. 2, 1963, unter Nr. 467 publiziert.



$\xrightarrow{OH^-}$ $\underset{H^+}{\leftarrow}$



9 R = H: Verrucarinolacton (2(*S*)-3(*R*)-2-Hydroxy-3-methyl-δ-valerolacton)

16 R = OH: Verrucarinsäure (2(*S*)-3(*R*)-2,5-Dihydroxy-3-methyl-valeriansäure)

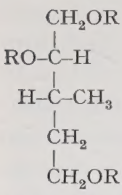
15 R = $COCH_3$

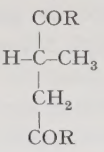
17 R = $NH{-}CH(C_6H_5)_2$

18 R = $NH{-}NH{-}C_6H_5$

$LiAlH_4$ ↓

$KMnO_4$ ↘





19 R = H

20 R = 3,5-Dinitrobenzoyl

21 R = OH: (*R*)-(+)-Methylbernsteinsäure

22 R = NH_2

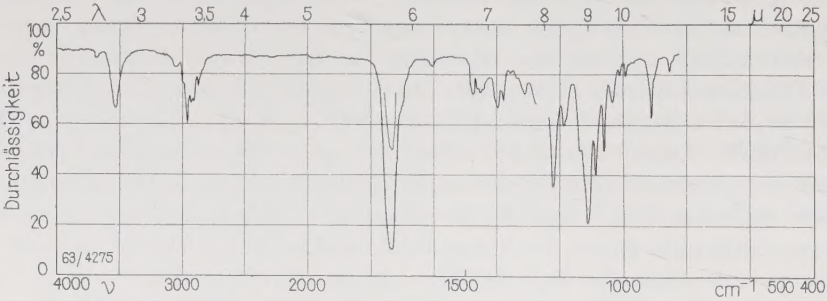


Fig. 4. *IR.-Spektrum von Verrucarinsäurelacton* (**9**) *in Methylenchlorid*[5])

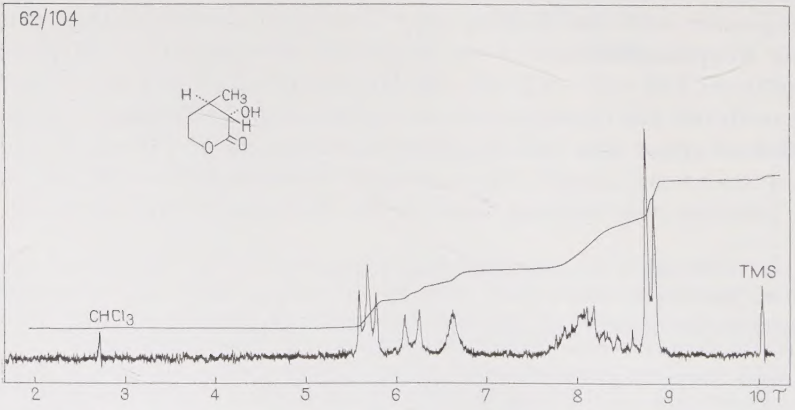
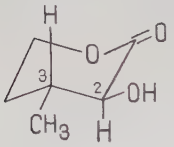
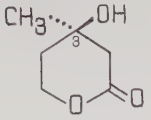


Fig. 5. *NMR.-Spektrum von Verrucarinsäurelacton* (**9**) *in Deuterochloroform*[6])

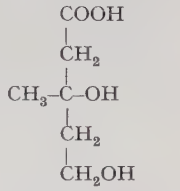
folgt, dass das Lacton **9** wie erwartet die thermodynamisch stabilere Sesselform **9a** einnimmt, in der die Hydroxylgruppe an C-2 und die Methylgruppe an C-3 bisäquatorial angeordnet sind. Damit ist die relative Konfiguration des Lactons **9** festgelegt. Die absolute Konfiguration konnte durch den oxydativen Abbau von **9** mit $KMnO_4$ in wässeriger H_2SO_4 bewiesen werden. Es entstand die (+)-Methylbernsteinsäure (**21**), die durch das (+)-Diamid **22** charakterisiert wurde. Da die rechtsdrehende Methylbernsteinsäure die D-, resp. (*R*)-Konfiguration (Bezeichnung nach CAHN *et al.* [13])



9a



23 Mevalolacton



24 Mevalonsäure

besitzt [14], kommt der Verrucarinsäure die Konfiguration der 2(*S*)-3(*R*)-2,5-Dihydroxy-3-methyl-valeriansäure im Sinne der FISCHER-Projektionsformel **16** zu. Das durch $LiAlH_4$-Reduktion von **9** erhaltene 3-Methylpentantriol-(1,2,5) besitzt infolgedessen die in Formel **19** angegebene Konfiguration. – In Fig. 6 ist die optische Rotationsdispersionskurve des Verrucarinolactons wiedergegeben[9]).

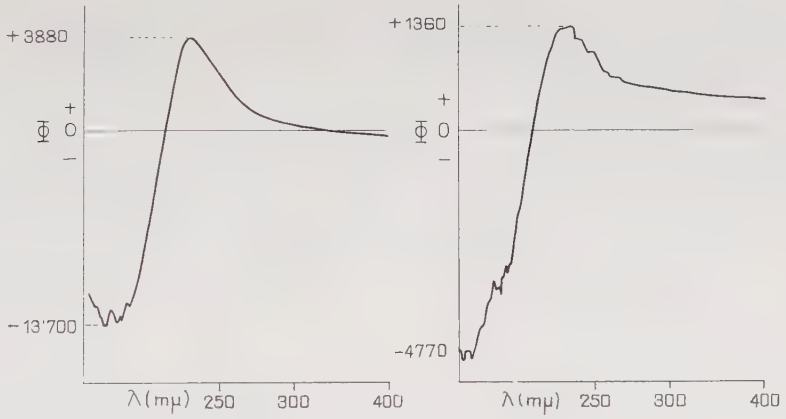


Fig. 6. *Optische Rotationsdispersionskurven*[10])

Verrucarinolacton (**9**) *in Wasser*

λ (nm)	Φ	Molek. Amplitude *a*
380	0	
230	+ 3880	+176
196	–13700	

Mevalolacton (**23**) *in Wasser*

λ (nm)	Φ	Molek. Amplitude *a*
380	115	
233	+1360	+61
195	–4770	

[9]) Über die optische Rotationsdispersion von Lactonen fanden wir in der Literatur keine Angaben.

[10]) Die Messungen verdanken wir Herrn Prof. W. KLYNE, Westfield College, London. Die Kurven wurden mit einem «BELLINGHAM and STANLEY Polarmatic '62»-Instrument aufgenommen; vgl. [15].

Verrucarinsäure (**16**) bzw. Verrucarinolacton (**9**) sind natürliche Strukturisomere der Mevalonsäure (**24**) bzw. des Mevalolactons (**23**) [16] [17]. Die absolute Konfiguration der an C-3 haftenden Methylgruppe ist bei der biologisch aktiven Form der Mevalonsäure gerade umgekehrt, obwohl die ORD-Kurve des (*R*)-(−)-Mevalolactons (**23**) (vgl. Fig. 6) prinzipiell gleich wie die des Verrucarinolactons verläuft. Die Konstellation des Mevalolactons ist allerdings nicht bekannt. Inkubationsversuche mit 2-[^{14}C]-Mevalonat zeigten, dass Kulturen von *Myrothecium*-Arten Mevalonsäure in Verrucarinsäure umwandeln können[11]). – Verrucarinolacton liess in Kulturen von *Lactobacillus acidophilus* keine acetatersetzende Aktivität erkennen; es ist deshalb für diesen Organismus kein Wachstumsfaktor wie Mevalolacton [16]. Ebensowenig war eine antagonistische Wirkung gegenüber **23** zu beobachten[12]).

Verknüpfung der Spaltstücke in Verrucarin A. – Verrucarin A (**1**) ist neutral und enthält, wie eingangs erwähnt, nur eine einzige, sekundäre Hydroxylgruppe. Die bei der Hydrolyse entstehenden Fragmente, *cis,trans*-Muconsäure (**7**), Verrucarinolacton (**9**) und Verrucarol (**12**), besitzen zusammen zwei Carboxylgruppen, drei Hydroxylgruppen und eine Estergruppierung, bzw. drei Carboxylgruppen und vier Hydroxylgruppen nach Öffnung des Lactons. Infolgedessen müssen diese drei Spaltstücke durch zwei bzw. drei Esterbindungen miteinander verbunden sein. Aus dieser Tatsache ergeben sich die folgenden, den Formeln A–F entsprechenden Verknüpfungsmöglichkeiten:

A: Verrucarol { >CHOH (sek.) / –CH_2O-*cis, trans*-Muc — Ver.lacton

B: Verrucarol { >CHOH (sek.) / –CH_2O-*trans,cis*-Muc — Ver.lacton

Verrucarol { >CHO-*cis,trans*-Muc / –CH_2O–Ver.säure } C

Verrucarol { >CHO-*trans,cis*-Muc / –CH_2O–Ver.säure } D

Verrucarol { >CHO–Ver.säure / –CH_2O-*cis,trans*-Muc } E

Verrucarol { >CHO–Ver.säure / –CH_2O-*trans,cis*-Muc } F

Muc bedeutet: –CO–$(CH{=}CH)_2$–CO

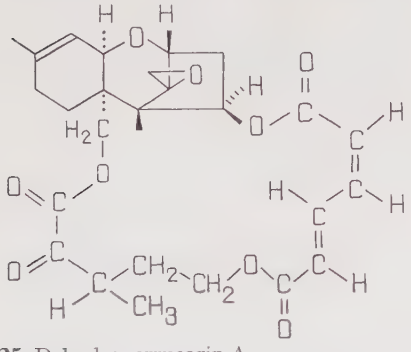
Die Muconsäure (**7**) kann einerseits mit der sekundären Hydroxylgruppe des Verrucarinolactons (**9**) und andererseits mit dem primären Hydroxyl des Verrucarols (**12**) verestert sein. (Veresterung mit dem sekundären Hydroxyl von **12** kommt nicht in Frage, denn Verrucarin (**1**) müsste sonst eine primäre Hydroxygruppe enthalten[13]).) Da sich in der Muconsäure die Folge der *cis*- und der *trans*-Doppelbindung vertauschen

[11]) Über die Biosynthese des Verrucarins A (**1**) wird später berichtet.

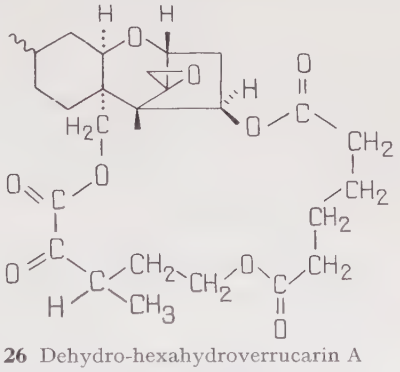
[12]) Wir danken Frl. Dr. D. Wiesinger, Medizinisch-biologische Laboratorien, Sandoz AG, Basel, bestens für diese Untersuchungen. Zur Methodik vgl. Skeggs *et al.* [16] sowie Thorne *et al.* [18].

[13]) Es wären auch cyclische Verknüpfungen denkbar gewesen, indem die eine Carboxylgruppe der Muconsäure mit dem einen Hydroxyl des Verrucarols (**12**), die andere aber mit der sekundären Hydroxygruppe der offenkettigen Verrucarinsäure (**16**) verbunden wäre. Durch Veresterung des zweiten Hydroxyls von **12** mit der Carboxylgruppe der Verrucarinsäure hätte sich der Ring geschlossen. Die freie Hydroxygruppe des Verrucarins A wäre aber wieder primär gewesen, nämlich das δ-Hydroxyl der Verrucarinsäure.

lässt, ergeben sich die beiden Formeln A und B. Die sekundäre Hydroxylgruppe des Antibioticums müsste sich bei dieser Anordnung im Verrucarolteil befinden. Wie die folgenden Versuche zeigen, ist dies aber nicht der Fall. Das eingangs erwähnte, durch Behandlung von Verrucarin A mit CrO_3 erhaltene Dehydroverrucarin A (**25**) wurde mit K_2CO_3 in wässerigem Methanol hydrolysiert. Es resultierten intaktes Verrucarol und *cis,trans*-Muconsäure aber kein Verrucarinolacton bzw. keine Verrucarinsäure (**16**). Zur Sicherheit wurde auch Hexahydroverrucarin A (**5**) mit CrO_3–H_2SO_4 in Aceton [6] in das neutrale Dehydroderivat **26** übergeführt. Auch hier war nach den IR.- und NMR.-Spektren eine Ketogruppe und keine Aldehydgruppe entstanden, was die sekundäre Natur der Hydroxylgruppe von Verrucarin A bestätigt. Analoge Hydrolyse von **6** lieferte wie erwartet Dihydroverrucarol A (**14**), Adipinsäure (**10**), und wiederum entstanden weder Verrucarinolacton noch Verrucarinsäure[14]). Die freie Hydroxylgruppe des Verrucarins A sitzt somit im Verrucarinsäureteil der Molekel. Die drei Hydrolysenprodukte sind infolgedessen im ursprünglichen Antibioticum zu einem grossgliedrigen Triester vereinigt, in welchem nicht Verrucarinolacton, sondern die Verrucarinsäure als Baustein auftritt. **9** ist ein nach der Hydrolyse von Verrucarin A entstandenes sekundäres Ringschlussprodukt. Das IR.-Spektrum von Verrucarin A (vgl. Fig. 1) zeigt allerdings nur *eine* jedoch breite Carbonylbande mit dem Schwerpunkt bei 1715 cm^{-1} und einer Schulter bei 1730 cm^{-1}. Die C=O-Schwingung der gesättigten Estergruppierung der Verrucarinsäure ist durch Assoziation mit dem benachbarten Hydroxyl nach längeren Wellenlängen verschoben, weshalb sie mit den C=O-Schwingungen der ungesättigten Estergruppen zusammenfällt. In Mono-O-acetyl-verrucarin A (**2**) und in Verrucarin B [19], wo das Hydroxyl fehlt, sind die Carbonylbanden in ein Dublett aufgespalten. Für Verrucarin A sind jetzt noch die vier Strukturformeln C–F möglich, in denen die Muconsäure (mit *cis,trans*- oder *trans,cis*-Sequenz) entweder mit der sekundären oder mit der primären Hydroxylgruppe des Verrucarols verestert ist, entsprechend den Formeln C und D resp. E und F. Versuche zur Abklärung der Sequenz der Bausteine im Antibioticum mit Hilfe einer partiellen Hydrolyse verliefen sowohl bei Verrucarin A als auch bei Hexahydroverrucarin A, Dehydroverrucarin A und Dehydro-hexahydroverrucarin A (**26**) bisher erfolglos.



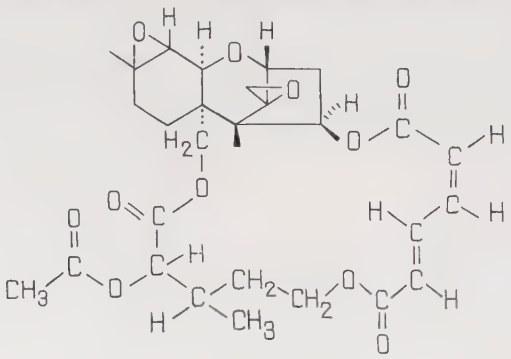
25 Dehydroverrucarin A



26 Dehydro-hexahydroverrucarin A

[14]) Das erwartete Oxydationsprodukt von **9** bzw. **16**, das α-Oxo-β-methyl-δ-valerolacton bzw. die α-Oxo-β-methyl-δ-hydroxyvaleriansäure konnten bisher nicht rein isoliert werden, da diese Verbindungen sehr unbeständig sind. Es ist auch nicht gelungen, diese Verbindungen durch direkte Oxydation von Verrucarinolacton (**9**) zu gewinnen.

Hingegen ist es gelungen, Verrucarin J, einen Begleiter von Verrucarin A, der anstelle der Verrucarinsäure die Anhydromevalonsäure als Baustein enthält, partiell zu hydrolysieren und zu beweisen, dass die Anhydromevalonsäure mit der primären Hydroxygruppe des Verrucarols verknüpft ist [20]. Im Hinblick auf die enge strukturelle und vermutliche biogenetische Verwandtschaft dieser beiden Verbindungen dürfte auch in Verrucarin A die gleiche Sequenz der Bausteine entsprechend den Formeln C und D vorliegen[15])[15a]). Darauf weisen auch die NMR.-Spektren der Verrucarin-A-Derivate hin, deren wichtigste Signale in der Tabelle aufgeführt sind. Es war folgendes zu beobachten: Die Kopplungskonstanten des doppelten Dubletts des C-4-Protons von Verrucarol, das α-ständig zur acylierten sekundären HO-Gruppe ist, betragen in allen ungesättigten Verbindungen **1**, **2** und **25** (auch in Verrucarin B; vgl. [19]) ca. 5,5 und 7,5 cps, während in Hexahydroverrucarin A (und auch in Hexahydroverrucarin B, vgl. [19]) Werte von ca. 4 und 7,5 cps beobachtet werden, entsprechend den acylierten Verrucarolderivaten, die keine Umlagerung erfahren haben [1]. Diese Verschiebung der J-Werte wird durch die Veränderung der Valenzwinkel zwischen den beteiligten H-Atomen infolge der Hydrierung bedingt, was besser verständlich ist, wenn in Verrucarin A das sekundäre und nicht das primäre Hydroxyl des Verrucarols mit der Muconsäure verestert ist. Auch die Beobachtung, dass die C-7- und C-8-Methylengruppen des Verrucarolanteils in Dehydroverrucarin A wie in dem aus Verrucarol erhaltenen Ketoaldehyd [1] als Singlett erscheinen, deutet auf die räumliche Nachbarschaft der neuen Ketogruppe von **25** mit den beiden Methylengruppen; nur so kann sie ihre Entschirmung bewirken. Von den beiden Strukturen C und D bevorzugen wir für Verrucarin A die Formel C, in Analogie zu Roridin A, wo die entsprechende *cis,trans*-Sequenz der beiden konjugierten Doppelbindungen auf Grund von zahlreichen NMR.-Daten nicht völlig bewiesen, aber sehr wahrscheinlich ist [21][16]).



27

[15]) Bei Verrucarin B und Verrucarin J sind wegen des Fehlens einer freien Hydroxylgruppe nur makrocyclische Strukturen möglich und Verknüpfungen analog zu A und B ausgeschlossen [19] [20].

[16]) Auch in Trichothecin ist es eine sekundäre Hydroxygruppe des Trichothecolons, welche die gleiche Stellung und Konfiguration wie diejenige des Verrucarols (**12**) einnimmt – beide Alkohole besitzen die gleiche Grundstruktur [1] [22] –, die mit der Isocrotonsäure (*cis*-Geometrie!) verestert ist [23].

[15a]) *Anm. bei der Korrektur:* Inzwischen ist es gelungen, durch einen oxydativen Abbau des Verrucarins A diese Sequenz der Bausteine direkt zu beweisen. Vgl. spätere Mitteilung.

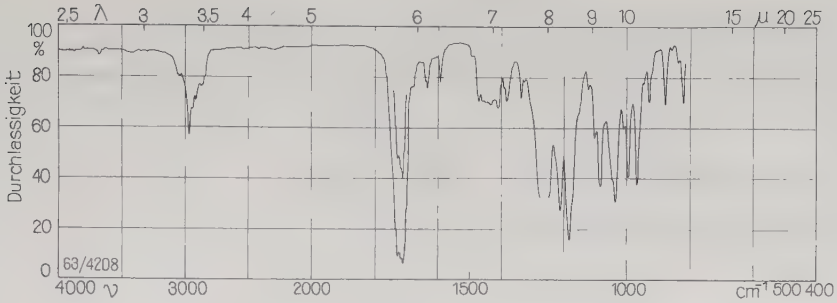


Fig. 7. *IR.-Spektrum von Dehydroverrucarin A* (**25**) *in Methylenchlorid*[5])

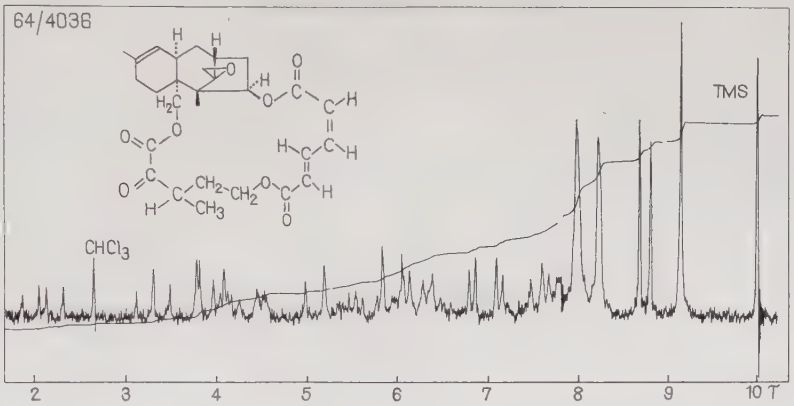


Fig. 8. *NMR.-Spektrum von Dehydroverrucarin A* (**25**) *in Deuterochloroform*[6])

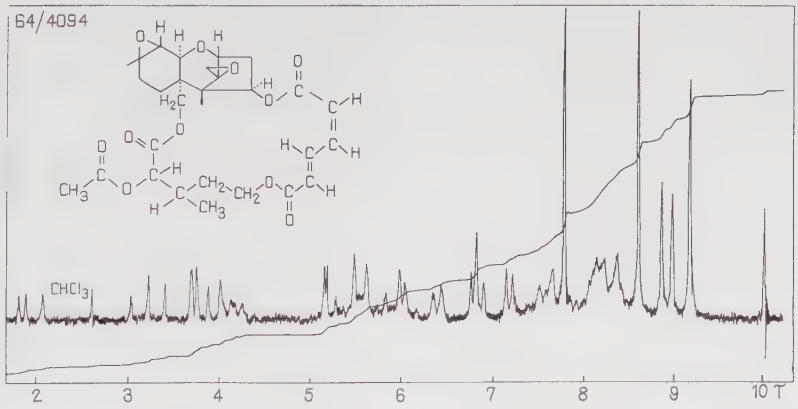


Fig. 9. *NMR.-Spektrum von Epoxy-mono-O-acetyl-verrucarin A* (**27**) *in Deuterochloroform*[6])

Im Zusammenhang mit weiteren Abbauversuchen stellten wir noch das Epoxy-mono-O-acetyl-verrucarin A (**27**) durch Behandeln von Mono-O-acetyl-verrucarin A (**2**) mit Perbenzoesäure in Chloroform bei 20° her. Im NMR.-Spektrum von **27** (vgl. Fig. 9 und Tab.) ist erwartungsgemäss das gewöhnlich bei 4,5 τ auftretende Signal des C-10-Vinylprotons durch ein Signal bei 6,84 τ ersetzt. Die Kopplungskonstante J

Zuordnung der H-Atome in den NMR.-Spektren (ausgewählte Daten) [6][17])

Substanz	Fig.	C-4 [a])	C-10 [b])	C-13 [b])	C-14 [b])	C-16 [b])	C-2′	C-6′	C-2″	C-3″	C-4″	C-5″
Verrucarin A (**1**)		4,17 *dd*	4,54 *d* (5)	7,03 AB (4)	9,13 *s*	8,21 *s*	ca. 5,8	9,11 *d* (7)	3,94 *d* (16)	1,92 *dd* (11; 16)	3,30 *t* (11)	3,83 *d* (11)
Mono-O-acetyl-verrucarin A (**2**) [c])	2	4,19 *dd*	4,59 *d* (5)	7,04 AB (4)	9,12 *s*	8,25 *s*	5,19 *d* (2)	8,92 *d* (7)	3,94 *d* (16)	1,95 *dd* (11; 16)	3,30 *t* (11)	3,84 *d* (11)
Dehydro-verrucarin A (**25**) [d])	8	4,15 *dd*	4,50 *d* (5)	7,0 AB (4)	9,15 *s*	8,26 *s*	—	8,75 *d* (7)	3,96 *d* (16)	2,10 *dd* (11; 16)	3,33 *t* (11)	3,89 *d* (11)
Epoxy-mono-O-acetyl-verrucarin A (**27**) [e])	9	4,14 *dd*	6,84 *d* (5,5)	6,99 AB (4)	9,18 *s*	8,61 *s*	5,16 *d* (2)	8,92 *d* (7)	3,87 *d* (16)	1,84 *dd* (11; 16)	3,22 *t* (11)	3,78 *d* (11)
Hexahydro-verrucarin A (**5**) [f])	–	4,11 *dd*	ca. 8	7,01 AB (4)	9,21 *s*	9,13 *d* (7)	ca. 5,75	9,13 *d* (7)	ca. 8	ca. 8	ca. 8	ca. 8

[a]) Kopplungskonstanten $J \simeq$ 5,5 und 7,5 cps in **1**, **2**, **25** und **27**, und $J \simeq$ 4 und 7,5 cps in **5**.
[b]) Vgl. NMR.-Tabelle über Verrucarol und seine Derivate bei GUTZWILLER *et al.* [1].
[c]) Acetylgruppe als Singlett bei 7,82 τ.
[d]) C-7- und C-8-Methylengruppen erscheinen als Vierprotonensinglett bei 8,0 τ [b]).
[e]) Weitere Signale: Acetyl: 7,79 *s*; H an C-11: 6,39 *d* (5,5); H an C-2: 6,0 *m*; H an C-15: 5,55 AB (12).
[f]) Weitere Signale: H an C-15: 5,55 AB (12).

[17]) Alle Substanzen wurden in $CDCl_3$ gelöst. Bei eindeutig erkennbaren Feinstrukturen bedeuten: *s* = Singlett, *d* = Dublett, *t* = Triplett, *dd* = doppeltes Dublett. In Klammern sind die Spin-Spin-Kopplungskonstanten J in cps angegeben.

von 5,5 cps deutet auf einen kleinen Valenzwinkel zwischen den H-Atomen an C-10 und C-11 hin [12], was für ihre *cis*-ständige Anordnung und somit für die β-Konfiguration der Epoxygruppe sprechen würde. Die übrigen Signale des NMR.-Spektrums von **27** sind, abgesehen von der Verschiebung der C-16-Methylgruppe, praktisch unverändert. Der Muconsäureanteil der Molekel ist somit intakt.

Nach all diesen Befunden halten wir die für Verrucarin A vorgeschlagene Strukturformel **1** für gut begründet. Verrucarin A ist somit ein makrocyclischer Triester, ein Strukturtyp, den man bisher in der Natur nicht angetroffen hat. Über die Faltung des 18gliedrigen Rings (Sekundärstruktur), die in Formel **1** willkürlich angegeben ist, kann nur eine RÖNTGEN-Analyse genaue Auskunft erteilen.

Diese Arbeit wurde grosszügig von der SANDOZ AG, Basel, finanziell und durch die Bereitstellung von Kulturen und Rohextrakten [18]) unterstützt, wofür wir auch an dieser Stelle bestens danken.

Experimenteller Teil

Die Smp. wurden auf dem KOFLER-Block bestimmt und sind nicht korrigiert. Substanzproben zur Messung der spezifischen Drehung, der UV.-, IR.- und NMR.-Spektren wurden 1 Std. bei 0,02 Torr und 60–70° getrocknet. Die UV.-Spektren wurden mit einem BECKMAN-Spektrophotometer, Modell DK 2, die IR.-Spektren mit einem PERKIN-ELMER-IR.-Zweistrahlspektrophotometer, Modell 21, mit NaCl-Optik, oder einem PERKIN-ELMER-IR.-Gitterspektrophotometer, Modell 125, aufgenommen. Substanzproben zur Elementaranalyse wurden, wenn nicht anders vermerkt, bei 0,02 Torr bei der angegebenen Zeit und Temp. getrocknet; wir verdanken die Analysen dem mikroanalytischen Laboratorium des Instituts (E. THOMMEN). Zur Säulenchromatographie nach der Durchlaufmethode [24] diente neutrales Al_2O_3 der Aktivitätsstufen I und II der Fa. M. WOELM, Eschwege, oder Kieselgel MERCK der Korngrösse 0,15–0,3 mm. Für die Dünnschichtchromatographie nach STAHL [25] wurden Kieselgel G als Adsorbens und Chloroform mit 0,5 bis 15% Methanol als Fliessmittel verwendet. Die Flecke wurden durch J_2-Dämpfe sichtbar gemacht. Übliches Aufarbeiten bedeutet: Eindampfen im Vakuum, Aufnehmen des Eindampfrückstands in Chloroform, Methylenchlorid oder Äther, Waschen mit 2N HCl, 2N Na_2CO_3 und Wasser, Trocknen über Na_2SO_4 und Eindampfen der Lösung im Vakuum.

I. Verrucarin A und Derivate des Verrucarins A

1. *Verrucarin A* (***1***). Das verwendete Präparat zeigte die bereits beschriebenen Eigenschaften [2]. IR.-Spektrum (CH_2Cl_2) u.a. Banden bei: 3540, 1730 (Schulter), 1715, 1635 (*sw*), 1590 (*sw*), 1210, 1190, 1085, 965 und 880 cm^{-1} (vgl. Fig. 1). NMR.-Spektrum vgl. Tab. Mol.-Gew. Ber. 502,5; Gef. 527 ± 26 (vaporometrische Mikromethode in CH_2Cl_2 [26] [19])).

2. *Mono-O-acetyl-verrucarin A* (***2***). Eine Lösung von 102 mg Verrucarin A (**1**) in 2 ml Pyridin wurde mit 2 ml Acetanhydrid versetzt und 26 Std. bei 20° stehengelassen. Das nach üblichem Aufarbeiten mit Chloroform erhaltene Rohprodukt wurde an 10 g Al_2O_3 chromatographiert (Akt. Stufe II). Die mit Petroläther-Benzol eluierten Fraktionen (97 mg) lieferten aus Aceton-Äther 47 mg reines **2** in farblosen Nadeln vom Smp. 212–215°. $[\alpha]_D^{23} = +132{,}5° \pm 2°$ ($c = 1{,}180$ in Chloroform). IR.-Spektrum (CH_2Cl_2) u.a. Banden bei: 1750 (Schulter), 1740, 1710, 1635 (*sw*), 1590 (*sw*), 1235, 1190, 1085, 1035, 970, 820 cm^{-1} (vgl. Fig. 1). UV.-Spektrum (Äthanol): Maximum bei 260 nm ($\log \varepsilon = 4{,}41$). NMR.-Spektrum: vgl. Fig. 2 und Tab. Zur Analyse wurde 3 Std. bei 100° getrocknet.

$C_{29}H_{36}O_{10}$ (544,6) Ber. C 63,95 H 6,65 O 29,4% Gef. C 63,9 H 6,6 O 29,6%

Mol.-Gew. Gef. 544 aus Massenspektrogramm [1]; 562 aus Mono-O-[^{14}C]-acetyl-verrucarin A (**2a**) [2].

3. *Mono-O-propionyl-verrucarin A* (***3***) [20]). Eine Lösung von 102 mg Verrucarin A (**1**) in 2 ml Pyridin wurde mit 2 ml Propionsäureanhydrid versetzt und 26 Std. bei 22° stehengelassen.

[18]) Wir danken dafür vor allem den Herren Dres. E. HÄRRI, W. LOEFFLER, H. P. SIGG und CH. STOLL.

[19]) Die Bestimmung verdanken wir Herrn PD Dr. W. SIMON, ETH Zürich.

[20]) Dieser Versuch wurde von Herrn W. ZÜRCHER durchgeführt.

Übliches Aufarbeiten ergab ein Öl, das nach Versetzen mit Petroläther feine Nadeln lieferte. Nach Umkristallisieren aus Aceton-Petroläther (62 mg) reines **3** in farblosen Nadeln vom Doppel-Smp. 150°/185°. Nach nochmaligem Umkristallisieren aus Aceton-Petroläther schmolz das Präparat bei 151–155°. $[\alpha]_D^{25} = +126° \pm 2°$ ($c = 1{,}112$ in Chloroform). IR.-Spektrum (CH_2Cl_2) u.a. Banden bei (Infracord): 1750, 1740, 1710, 1635 (*sw*), 1590 (*sw*), 1080, 1030, 965, 875 cm^{-1}. Zur Analyse wurde 3 Std. bei 100° getrocknet.

$C_{30}H_{38}O_{10}$ (558,6) Ber. C 64,50 H 6,86% Gef. C 64,67 H 6,93%

4. *Mono-O-benzoyl-verrucarin A* (***4***). Eine Lösung von 101 mg Verrucarin A (**1**) in 3 ml Pyridin und 1 ml Benzoylchlorid wurde 15 Std. bei 22° stehengelassen, hierauf bei 0° mit wenig Methanol versetzt und 30 Min. stehengelassen. Das nach üblichem Aufarbeiten erhaltene orange gefärbte Rohprodukt wurde zur Abtrennung des Methylbenzoates an 5 g Al_2O_3 chromatographiert. Die mit Äther und Chloroform eluierten Fraktionen (118 mg) ergaben aus Benzol-Äther 44 mg reines **4** in feinen Nadeln vom Smp. 217–221°. $[\alpha]_D^{21} = +80° \pm 2°$ ($c = 1{,}261$ in Chloroform). Zur Analyse wurde 5 Std. bei 100° getrocknet.

$C_{34}H_{38}O_{10}$	Ber. C 67,31	H 6,31	O 26,38%
(608,7)	Gef. ,, 67,59; 67,57	,, 6,43; 6,52	,, 25,58%

5. *Hexahydroverrucarin A* (***5***). Eine Lösung von 2,045 g Verrucarin A (**1**) in 100 ml Eisessig wurde in Gegenwart von 240 mg PtO_2,H_2O bei 22° hydriert. Nach 20 Min. waren 385 ml H_2 verbraucht, was unter Berücksichtigung des vom Katalysator verbrauchten Wasserstoffs 3,2 Äquivalenten entsprach. Nach Abfiltrieren des Katalysators über eine Schicht Celite wurde das Filtrat im Vakuum eingedampft, der Eindampfrückstand in Chloroform aufgenommen, mit 2N Na_2CO_3 und Wasser gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und im Vakuum eingedampft. Es resultierten 2,4 g Rohprodukt, das aus Aceton-Äther-Petroläther 1,78 g reines **5** in feinen, farblosen Plättchen vom Smp. 113–115° lieferte. $[\alpha]_D^{22} = +24° \pm 1°$ ($c = 1{,}155$ in Chloroform). IR.-Spektrum (CH_2Cl_2) u.a. Banden bei : 3680, 3580, 1725, 1090, 965 cm^{-1}. UV.-Spektrum (Äthanol): keine selektive Absorption. NMR.-Spektrum vgl. Tab. Zur Analyse wurde 5 Std. bei 100° getrocknet.

$C_{27}H_{40}O_9$	Ber. C 63,76	H 7,93	O 28,32%
(508,6)	Gef. ,, 63,9; 63,73	,, 7,9; 7,95	,, 28,7; 28,5%

Mol.-Gew. Gef. 510 ± 10 (vaporometrische Mikromethode in CH_2Cl_2 [26][19]); 508 aus Massenspektrogramm[1]).

6. *Mono-O-acetyl-hexahydroverrucarin A* (***6***). – a) *Aus Hexahydroverrucarin A* (***5***). Eine Lösung von 91 mg Hexahydroverrucarin A in 2 ml Pyridin und 2 ml Acetanhydrid wurde 23 Std. bei 22° stehengelassen. Übliches Aufarbeiten mit Chloroform lieferte 103 mg Rohprodukt, das aus Äther-Pentan 79 mg reines **6** in feinen farblosen Nadeln vom Smp. 155–158° lieferte. $[\alpha]_D^{22} = +20° \pm 2°$ ($c = 1{,}278$ in Chloroform). IR.-Spektrum (CH_2Cl_2) u.a. Banden bei: 1750 (Schulter), 1740–1725, 1380, 1235, 1200, 1090, 1035, 965 cm^{-1}. Zur Analyse wurde 5 Std. bei 100° getrocknet.

$C_{29}H_{42}O_{10}$	Ber. C 63,26	H 7,69	O 29,06%
(550,6)	Gef. ,, 63,4; 63,7	,, 7,5; 7,4	,, 29,9; 29,0%

b) *Aus Mono-O-acetyl-verrucarin A* (***2***). Eine Lösung von 50 mg **2** in 10 ml Eisessig wurde in Gegenwart von 20 mg PtO_2,H_2O bei 22° hydriert. Nach Aufnahme von 3 Äquiv. H_2 wurde der Katalysator über eine Schicht Celite abfiltriert und das Filtrat im Vakuum eingedampft. Der Rückstand wurde in Chloroform aufgenommen, mit 2N Na_2CO_3 und Wasser gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und im Vakuum eingedampft. Es resultierten 48 mg Rohprodukt, das aus Äther-Pentan 29 mg Mono-O-acetyl-hexahydroverrucarin A vom Smp. 155–158° lieferte. Nach Misch-Smp., spez. Drehung und Dünnschichtchromatogramm identisch mit dem aus **5** erhaltenen Präparat.

7. *Mono-O-[^{14}C]-acetyl-hexahydroverrucarin A* (***6a***). Eine Lösung von 53 mg Hexahydroverrucarin A (**5**) in 0,3 ml Pyridin wurde mit 0,3 ml [^{14}C]-Acetanhydrid versetzt und wie üblich aufgearbeitet. Nach Chromatographie des Rohprodukts an 2 g Al_2O_3 wurden die erhaltenen Kristalle von ***6a*** bis zur konstanten Radioaktivität aus Äther-Petroläther umkristallisiert. Die nach der 5. Kristallisation erhaltenen Kristalle vom Smp. 159–162° ergaben eine spezifische Radioaktivität von 15140 dpm/mg. Durch Vergleich der Aktivität mit zwei aus dem gleichen [^{14}C]-markierten Acetanhydrid hergestellten [^{14}C]-Acetanilid-Präparaten mit spez. Radioaktivitäten

von 8723000 bzw. 8969000 dpm/mMol ergaben sich Mol.-Gewichte von 576 bzw 592 (ber. 550)[21]. Für Hexahydroverrucarin A ergaben sich Mol.-Gewichte von 534 bzw. 550 (ber. 508). Der Fehler beträgt ± 2%.

8. *Dehydroverrucarin A* (***25***). Eine Lösung von 120 mg reinem Verrucarin A (**1**) in 20 ml Aceton wurde mit 1 ml CrO_3–H_2SO_4-Stammlösung (2,67 g CrO_3; 2,13 ml konz. H_2SO_4 ad 10 ml Wasser) versetzt (ca. zehnfacher Überschuss) und bei 25° während 45 Min. gerührt. Nach Versetzen mit 25 ml Wasser wurde das Aceton im Vakuum entfernt, die wässerige Lösung mit Methylenchlorid ausgeschüttelt, die organische Phase mit Wasser gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und im Vakuum eingedampft. Aus dem Rohprodukt kristallisierten aus Äther 63 mg Dehydroverrucarin A in farblosen Kristallen. Subl. ab 220°, Zers. ab 280°. $[\alpha]_D^{25} = +114° \pm 3°$ ($c = 1{,}03$ in Chloroform). IR.-Spektrum (CH_2Cl_2) u.a. Banden bei: 1740 (Schulter), 1730–1710, 1635 (*sw*), 1590 (*sw*), 1210, 1185, 1035, 995, 970, 880, 820 cm^{-1} (vgl. Fig. 7). UV.-Spektrum (Äthanol): Maximum bei 260 nm ($\log\varepsilon = 4{,}36$). NMR.-Spektrum: vgl. Fig. 8 und Tab. Zur Analyse wurde 15 Std. bei 80° getrocknet.

$C_{27}H_{32}O_9$ (500,5) Ber. C 64,78 H 6,45% Gef. C 64,93 H 6,63%

9. *Dehydro-hexahydroverrucarin A* (***26***). Eine Lösung von 256 mg Hexahydroverrucarin A (**5**) in 8 ml Eisessig wurde mit 2,5 ml 2-proz. CrO_3-Lösung in Eisessig (1,5 O-Äquiv.) versetzt und 7 Std. bei 20° stehengelassen, worauf noch CrO_3 nachweisbar war. Nach Zugabe von wenig Äthanol wurde die grüne Lösung im Vakuum eingedampft, der Eindampfrückstand in Methylenchlorid-Äthanol-(9:1) aufgenommen, die Lösung mit 2N H_2SO_4, 2N Na_2CO_3 und Wasser gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und im Vakuum eingedampft. Es resultierten 250 mg leicht grün gefärbter Rohextrakt, der an 12 g Silicagel chromatographiert wurde. Die mit Methylenchlorid, das 1–5% Methanol enthielt, eluierten Fraktionen ergaben 220 mg fast reines Dehydro-hexahydroverrucarin A, das bis jetzt nicht kristallisierte. $[\alpha]_D^{22} = -19° \pm 2°$ ($c = 1{,}12$ in Methanol). IR.-Spektrum (CH_2Cl_2) u.a. Banden bei: 1740–1725, 1080, 965 cm^{-1}.

10. *Epoxy-mono-O-acetyl-verrucarin A* (***27***)[20]. Eine Lösung von 630 mg Mono-O-acetyl-verrucarin A (**2**) in 1 ml Chloroform wurde mit 10,5 ml 0,33N Perbenzoesäure in Chloroform (entspr. 3 Äquiv.) 16 Std. bei 22° stehengelassen. Hierauf wurde mit Chloroform verdünnt und mit 20-proz. $Na_2S_2O_3$-Lösung, zweimal mit 2N Na_2CO_3 und zweimal mit Wasser ausgeschüttelt. Nach Trocknen über Na_2SO_4 und Eindampfen der Chloroformlösung resultierten 678 mg Rohprodukt, das an 250 g Kieselgel (Korngrösse 0,05–0,2 mm) chromatographiert wurde. Die ersten mit Methylenchlorid, das 0,5% Methanol enthielt, eluierten Fraktionen ergaben 32 mg reines *Mono-O-acetyl-verrucarin A* (***2***). Die folgenden Fraktionen lieferten 117 mg Gemisch, das nicht getrennt wurde. Die restlichen mit Methylenchlorid, das 1% Methanol enthielt, eluierten Fraktionen ergaben 450 mg Rohprodukt, das nach Umkristallisieren aus Methylenchlorid-Äther 329 mg reines *Epoxy-mono-O-acetyl-verrucarin A* (**27**) in Nadeln vom Smp. 192–193° lieferte. $[\alpha]_D^{23} = +102° \pm 2°$ ($c = 1{,}026$ in Chloroform). IR.-Spektrum (in CH_2Cl_2) u.a. Banden bei: 3040–3020, 1755, 1740, 1720, 1710, 1630, 1590, 965 und 855 cm^{-1}. Zur Analyse wurde 3 Std. bei 100° getrocknet.

$C_{29}H_{36}O_{11}$ (560,6) Ber. C 64,14 H 6,46% Gef. C 61,85 H 6,62%

II. Hydrolytische Spaltungen

1. *Hydrolyse von Verrucarin A* (***1***) *mit* K_2CO_3. Eine Lösung von 5,73 g Verrucarin A in 750 ml Methanol wurde mit einer Lösung von 60 g K_2CO_3 in 200 ml Wasser (ca. 1N K_2CO_3-Lösung in 80-proz. Methanol) versetzt und das gelb gefärbte Gemisch 5 Std. bei 20° gerührt. Das Methanol wurde im Vakuum entfernt und die alkalische Lösung mit Methylenchlorid, das 20% Äthanol enthielt, ausgeschüttelt. Nach Waschen mit Wasser und Trocknen über $MgSO_4$ ergaben die Extrakte nach Eindampfen im Vakuum 2,85 g neutrales Rohprodukt. Aus Aceton-Äther resultierten 2,69 g Kristalle. Nach Umkristallisieren aus Aceton-Äther wurde reines *Verrucarol* (***12***) in Nadeln vom Smp. 155–156° erhalten. Zur weiteren Charakterisierung vgl. [1]. – Die oben verbliebene wässerig-alkalische Lösung und die Waschwasser wurden vereinigt, mit konz. H_2SO_4 auf pH 2 gebracht und mit Äther ausgeschüttelt. Die Ätherlösungen ergaben nach Waschen mit Wasser, Trocknen über $MgSO_4$ und Eindampfen im Vakuum 1,45 g Rohprodukt, aus dem nach Versetzen mit Methanol-Wasser 909 mg cis, trans-*Muconsäure* (***7***) auskristallisierten, die nach zweimaligem

[21] Die Bestimmung der Radioaktivitäten verdanken wir Herrn Dr. F. Kalberer, Sandoz AG, Basel.

Umkristallisieren aus Wasser bei 180-188° schmolz. IR.-Spektrum (Nujol) u.a. Banden bei: 2650–2500, 1680, 1630, 1610, 1280, 1190, 1020, 715 cm^{-1}. UV.-Spektrum (Äthanol): Maximum bei 259,5 nm ($\log\varepsilon = 4{,}63$). Zur Analyse wurde 5 Std. bei 110° getrocknet.

$C_6H_6O_4$ (142,1) Ber. C 50,71 H 4,26 O 45,04% Gef. C 51,0 H 4,2 O 45,1%

Äquivalentgewicht: Gef. 153,2 aus Mikrotitration für zweibasische Säure.

Die nach dem Ausschütteln mit Äther verbliebenen sauren, wässerigen Phasen wurden vereinigt und im KUTSCHER-STEUDEL-Apparat während 60 Std. mit Äther extrahiert. Die Extrakte lieferten nach Eindampfen 1,33 g Rückstand, der nach Destillation im Molekularkolben bei 60° Badtemperatur/13 Torr 974 mg reines *Verrucarinsäurelacton* (**9**) in langen, farblosen Nadeln lieferte, die nach Umkristallisieren aus Äther bei 103–104° schmolzen. $[\alpha]_D^{22} = -9° \pm 1°$ ($c = 1{,}033$ in Chloroform). IR.-Spektrum (CH_2Cl_2) u.a. Banden bei: 3540, 1735, 1220, 1110, 1090, 1060, 910 cm^{-1} (vgl. Fig. 4). UV.-Spektrum (Äthanol): keine selektive Absorption. NMR.-Spektrum vgl. Fig. 5. Zur Analyse wurde bei 60° und 13 Torr sublimiert.

$C_6H_{10}O_3$	Ber.	C 55,4	H 7,8	O 36,8	$1\,(C)CH_3$ 11,5%
(131,1)	Gef.	,, 55,7	,, 7,7	,, 36,4	,, 5,9%

Mol-Gew.: Gef. 135 ± 3 (vaporometrische Mikromethode [26][19]); 127 und 129 aus Lactontitration.

2. *Spaltung von Verrucarin A* (**1**) *mit* $LiAlH_4$. Eine Lösung von 115 mg Verrucarin A in 10 ml Tetrahydrofuran wurde portionenweise zu einer Suspension von 200 mg $LiAlH_4$ in 20 ml Tetrahydrofuran-Äther gegeben, während 4 Std. rückfliessend erwärmt und bei 0° vorsichtig mit 1N H_2SO_4 versetzt, bis beide Phasen klar waren. Die wässerige Phase wurde mit Methylenchlorid-Äthanol-(9:1) ausgeschüttelt, die organischen Phasen mit Wasser gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und im Vakuum eingedampft. Das ölige Rohprodukt (80 mg) wurde an 10 g Silicagel chromatographiert. Die mit Methylenchlorid, das 4% Methanol enthielt, eluierten Fraktionen (35 mg) ergaben aus Aceton-Äther 28 mg *Dihydroverrucarol B* (**13**) vom Smp. 109–115°, das nach IR.-Spektrum und Dünnschichtchromatogramm identisch war mit einem aus Verrucarol (**12**) hergestellten Präparat von Dihydroverrucarol B. Die übrigen, polaren Spaltprodukte wurden nicht näher untersucht.

3. *Hydrolyse von Hexahydroverrucarin A* (**5**) *mit KOH*. Eine Lösung von 960 mg Hexahydroverrucarin A in 100 ml Methanol wurde mit 5 g KOH versetzt und 3 Std. unter Rückfluss erhitzt. Hierauf wurde mit 100 ml Wasser versetzt und das Methanol im Vakuum entfernt. Die alkalische, wässerige Phase wurde mit Chloroform ausgeschüttelt, die organische Lösung mit 2N H_2SO_4 und Wasser gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und im Vakuum eingedampft. Aus den 440 mg rohen neutralen Anteilen kristallisierten aus Aceton-Äther 277 mg *Dihydroverrucarol A* (**14**) vom Smp. 149–151°; nach Dünnschichtchromatogramm, Misch-Smp. und IR.-Spektrum identisch mit aus Verrucarol gewonnenem Dihydroverrucarol A.

Die vereinigten wässerigen Phasen wurden mit konz. H_2SO_4 auf pH 2 gebracht, mit Äther ausgeschüttelt, die Ätherlösung mit Wasser gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und im Vakuum eingedampft. Der Rückstand (219 mg) ergab aus Methanol-Äther-Petroläther 55 mg *Adipinsäure* (**10**) in flachen Kristallen vom Smp. 148–150° (sublimiert ab 135° in feinen Rhomboedern); Misch-Smp. mit authentischer Adipinsäure ebenso. Zur Analyse wurde 3 Std. bei 100° getrocknet.

$C_6H_{10}O_4$ (146,14) Ber. C 49,3 H 6,9 O 43,8% Gef. C 49,4 H 6,8 O 43,4%

Die verbliebenen sauren, wässerigen Phasen wurden vereinigt und während 24 Std. im KUTSCHER-STEUDEL-Apparat mit Äther extrahiert. Die Ätherextrakte lieferten nach Trocknen über Na_2SO_4 und Eindampfen im Vakuum 360 mg Rohprodukt, das aus einem Gemisch von Adipinsäure und Verrucarinsäurelacton bestand. Durch Sublimation bei 60° Badtemperatur und 14 Torr im Molekularkolben liessen sich 180 mg reines *Verrucarinsäurelacton* (**9**) in farblosen Nadeln vom Smp. 103–104° abtrennen.

Adipinsäure-dianilid (**11**). Eine Lösung von 24 mg Adipinsäure (**10**), die aus **5** durch alkalische Hydrolyse erhalten worden war, in 300 mg frisch über Zink destilliertem Anilin wurde 2 Std. auf 190° erhitzt. Das nach Erkalten kristallisierende, in Äther unlösliche rohe Anilid wurde mit Äther, 2N HCl, Wasser und nochmals Äther auf einem Papierfilter gewaschen und aus Äthanol-Wasser umkristallisiert: 23 mg reines Adipinsäuredianilid vom Smp. 239–240°; Misch-Smp. mit authentischem Material ebenso. Zur Analyse wurde 3 Std. bei 100° getrocknet.

$C_{18}H_{20}O_2N_2$ (296,3) Ber. C 72,94 H 6,81 N 9,45% Gef. C 73,1 H 6,6 N 9,5%

4. *Hydrolyse von Dehydroverrucarin A* (**25**) *mit* K_2CO_3. Eine Lösung von 60 mg **25** in 10 ml Methanol und 10 ml 2N wässeriger K_2CO_3 wurde nach 12 Std. Stehen bei 20° im Vakuum vom Methanol befreit und mit Methylenchlorid ausgeschüttelt. Dabei resultierten 29 mg neutrale Anteile, die aus Aceton-Äther 20 mg *Verrucarol* (**12**) vom Smp. 155–157° lieferten, das nach Dünnschichtchromatogramm, Misch-Smp. und IR.-Spektrum mit Verrucarol aus Verrucarin A (**1**) identisch war.

Die verbliebene wässerige Lösung wurde mit konz. H_2SO_4 auf pH 2 gebracht und mit Äther ausgeschüttelt. Es resultierten 20 mg saure Anteile, aus denen nach Zugabe von Methanol ca. 10 mg cis, trans-*Muconsäure* (**7**) vom Smp. 180–185° kristallisierten, die nach Dünnschichtchromatogramm mit einem authentischen Präparat von **7** identisch war.

Durch 24stdg. kontinuierliche Extraktion der verbliebenen wässerigen Phase mit Methylenchlorid und Eindampfen der Extrakte wurden 11 mg Öl gewonnen, das sich nach Dünnschichtchromatogramm als uneinheitlich erwies[14]).

Ein analoger Versuch mit 32 mg Dehydroverrucarin A und 40 mg K_2CO_3 in 0,4 ml H_2O und 15 ml Methanol (entspr. 0,04N K_2CO_3-Lösung) bei 22° ergab nach 22 Std. 13 mg krist. Verrucarol. Partielle Hydrolysenprodukte waren weder in den Mutterlaugenrückständen noch in Proben, die nach kürzerer Reaktionszeit periodisch aufgearbeitet wurden, nachzuweisen.

5. *Hydrolyse von Dehydro-hexahydroverrucarin A* (**26**). Eine Lösung von 165 mg Dehydrohexahydroverrucarin A in 25 ml Methanol und 25 ml wässeriger K_2CO_3-Lösung wurde nach 22 Std. Stehen bei 22° mit ca. 20 ml Wasser versetzt und im Vakuum vom Methanol befreit. Die alkalische, leicht trübe Lösung wurde mehrmals mit Methylenchlorid-Alkohol-(9:1) ausgeschüttelt, die Auszüge mit Wasser gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und im Vakuum eingedampft. Der farblose Rückstand (65 mg) ergab aus Aceton-Äther-Petroläther 40 mg *Dihydroverrucarol A* (**14**) in farblosen, rhombischen Kristallen vom Smp. 157–159°; $[\alpha]_D^{22} = -6° \pm 1°$ ($c = 0{,}909$ in Chloroform); nach Misch-Smp., Dünnschichtchromatogramm, IR.-Spektrum und spez. Drehung identisch mit Dihydroverrucarol A aus Verrucarol (**12**).

Die vereinigten wässerigen Phasen wurden mit konz. H_2SO_4 tropfenweise bis zur kongosauren Reaktion versetzt und mit Äther gründlich ausgeschüttelt. Nach der üblichen Aufarbeitung resultierten 60 mg saure Anteile, woraus durch Destillation im Molekularkolben bei 70° Badtemperatur/15 Torr 12 mg einer klaren Flüssigkeit gewonnen werden konnten (Gemisch, das nicht getrennt werden konnte[14])). Aus dem farblosen Destillationsrückstand kristallisierten aus Aceton-Petroläther 18 mg *Adipinsäure* (**10**) in feinen Plättchen vom Smp. 148–152°; Misch-Smp. mit authentischer Adipinsäure ebenso.

Die verbliebenen sauren wässerigen Phasen wurden 20 Std. bei Zimmertemperatur im Kutscher-Steudel-Apparat mit Methylenchlorid extrahiert. Der Eindampfrückstand des Extraktes (30 mg) ergab nach Destillation im Molekularkolben bei 70° Badtemperatur/15 Torr 15 mg farblose, klare Flüssigkeit (Gemisch, das nicht getrennt werden konnte[14])).

III. Konstitution der Spaltprodukte von Verrucarin A

1. Die Muconsäuren. – a) *Darstellung von* cis, cis- *und* cis, trans-*Muconsäure*. Nach Elvidge *et al.* [9] liess man unter Kühlung im Eisbad eine Mischung von 650 g Acetanhydrid und 5 ml konz. H_2SO_4 innert 8 Std. unter Rühren zu 150 ml 30-proz. H_2O_2 tropfen. Dann wurde die Lösung bei ca. 20 Torr destilliert, wobei nach einem Vorlauf von 150 ml ca. 600 ml 13-proz. Peressigsäure als Hauptfraktion bei 25–30° gewonnen wurden. Zu diesen 600 ml Peressigsäure wurden 26 g Phenol gegeben und die Lösung bei 20° im Dunkeln stehengelassen. Nach 14 Tagen wurde die braune Lösung von den ausgeschiedenen Kristallen abdekantiert. Die Kristalle wurden in 10-proz. $NaHCO_3$ gelöst, die alkalische Phase mit Äther gewaschen und die *cis, cis*-Muconsäure aus der noch schwach gelben Lösung durch Ansäuern mit konz. HCl ausgefällt. Aus Äthanol 6 g cis, cis-*Muconsäure* in farblosen Nadeln, nach Umkristallisieren aus Äthanol Smp. 181–183°.

2 g *cis, cis*-Muconsäure wurden dreimal aus siedendem Wasser umkristallisiert, wodurch 600 mg reine cis, trans-*Muconsäure* (**7**) vom Smp. 172–174° erhalten wurden. Für die Dünnschichtchromatographie wurde als Fliessmittel Benzol-Butanol-(9:1), das 2% Ameisensäure enthielt, verwendet.

b) Trans, trans-*Muconsäure*. Ein käufliches Präparat (Fluka AG, Buchs SG) wurde durch zweimaliges Umkristallisieren aus Äthanol gereinigt: Smp. 296–298°.

c) Cis,cis-, cis,trans- *und* trans,trans-*Muconsäure-dimethylester.* 250 mg *cis,cis*- bzw. 150 mg *cis,trans*-Muconsäure wurden in möglichst wenig reinem Methanol gelöst und mit Äther auf ca. 50 ml bzw. 40 ml verdünnt. Die ätherischen Lösungen wurden zweimal mit frisch bereiteter, ätherischer Diazomethanlösung bis zur bleibenden Gelbfärbung versetzt und sofort im Vakuum zur Trockne eingedampft. Die farblosen Rohkristallisate wurden aus Äther-Petroläther umkristallisiert und ergaben: 200 mg cis,cis-*Muconsäure-dimethylester*, Smp. 73–74° (sublimiert ab ca. 60°), 95 mg cis,trans-*Muconsäure-dimethylester*, Smp. 74–75° (sublimiert ab ca. 65°).

50 mg käufliche, gereinigte *trans,trans*-Muconsäure, nach dem gleichen Verfahren verestert, ergaben nach Umkristallisieren aus Aceton-Äther 27 mg *trans,trans*-Muconsäure-dimethylester in feinen Prismen vom Smp. 145° (gleichzeitige Sublimation).

d) Cis,trans-*Muconsäure-dimethylester* (***8***) *aus Verrucarin A* (***1***). 50 mg *cis,trans*-Muconsäure (***7***) vom Smp. 180–188°, die aus Verrucarin A durch alkalische Hydrolyse gewonnen worden war, wurde nach dem gleichen Verfahren verestert und ergab nach Umkristallisieren aus Äther 35 mg reines, kristallines **8** vom Smp. 73–75°; Misch-Smp. mit einem authentischen Präparat ebenso[7]). NMR.-Spektrum vgl. Fig. 3.

2. Verrucarinsäurelacton (9) und Verrucarinsäure (16). – a) *Mono-O-acetyl-verrucarinsäurelacton* (***15***). Eine Lösung von 64 mg Verrucarinsäurelacton in 1 ml Pyridin wurde mit 1 ml Acetanhydrid versetzt und 4 Tage bei 20° stehengelassen. Hierauf wurde im Vakuum eingedampft, der Rückstand mehrmals mit Aceton versetzt, wieder eingedampft und zweimal im Molekularkolben bei 60° Badtemperatur/14 Torr destilliert. Dabei wurden 54 mg Mono-O-acetyl-verrucarinsäurelacton als farbloses Öl erhalten, das nach Dünnschichtchromatogramm einheitlich war, jedoch nicht kristallisierte und sich schlecht trocknen liess. IR.-Spektrum (CH_2Cl_2) u.a. Banden bei: 1755–1740, 1375, 1225, 1100, 920 cm^{-1}. Zur Analyse wurde durch Destillation bei 60°/15 Torr getrocknet.

$C_8H_{12}O_4$ (172,2) Ber. C 55,8 H 7,0 O 37,2% Gef. C 54,5 H 7,3 O 38,9%

b) *Titration von Verrucarinsäure* (***16***). Eine Lösung von 33,3 mg Verrucarinsäurelacton (**9**) in 1 ml 1,62N wässeriger KOH (sofortige Lösung als K-Salz der Verrucarinsäure bei 20°) wurde 20 Min. bei 20° stehengelassen, mit einem Tropfen Phenolphtalein versetzt und mit 0,1N HCl potentiometrisch zurücktitriert. Aus der Differenz des Säureverbrauchs zu einer Blindprobe ergab sich das Äquivalentgewicht des Lactons zu 129. Bei einer Wiederholung dieses Versuches wurde in guter Übereinstimmung mit diesem Resultat der Wert von 127 gefunden. Aus der Titrationskurve konnte, ohne grosse Genauigkeit, ein pk_s von ca. 3,1 in Wasser ermittelt werden.

c) *Verrucarinsäure-benzhydrylamid* (***17***). Eine Lösung von 48 mg krist. Verrucarinsäurelacton (**9**) in ca. 300 mg Benzhydrylamin wurde 1 Std. auf dem Dampfbad erwärmt. Nach Erkalten wurde mit Methylenchlorid versetzt, mit 2N HCl und Wasser gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und im Vakuum eingedampft. Das Rohprodukt (117 mg) wurde an 4 g Al_2O_3 chromatographiert. Methylenchlorid mit 1–5% Methanol eluierte 69 mg, die aus Aceton-Petroläther 65 mg reines **17** in feinen Nadeln vom Smp. 119–120° ergaben. $[\alpha]_D^{22} = -30° \pm 2°$ ($c = 1{,}110$ in Aceton). IR.-Spektrum (KBr) u.a. Banden bei: 3060 (*sw*), 3030 (*sw*), 1640, 1580 (*sw*), 1510, 1490, 1450, 1055, 760, 735, 700, 690, 590 cm^{-1}. Zur Analyse wurde 15 Std. bei 50° getrocknet.

$C_{19}H_{23}O_3N$ (313,4) Ber. C 72,81 H 7,40 N 4,47% Gef. C 72,65 H 7,37 N 4,47%

d) *Verrucarinsäure-phenylhydrazid* (***18***). Eine Lösung von 59 mg krist. Verrucarinsäurelacton (**9**) (0,454 mMol) in 3 ml Äther wurde mit 0,454 mMol (0,0446 ml) Phenylhydrazin versetzt und nach Verdunsten des Lösungsmittels 30 Min. auf 90° erwärmt. Der rot gefärbte, zähflüssige Rückstand ergab aus Aceton-Petroläther 64 mg Kristalle. Nach viermaligem Umkristallisieren aus Aceton-Petroläther wurde reines **18** in Nadeln vom Smp. 142–143° erhalten. $[\alpha]_D^{22} = -43° \pm 2°$ ($c = 1{,}04$ in Aceton). IR.-Spektrum (KBr) u.a. Banden bei: 1640, 1600, 1490, 1110, 1045, 1010, 690, 485 cm^{-1}. Zur Analyse wurde 15 Std. bei 50° getrocknet.

$C_{12}H_{18}O_3N_2$ (238,28) Ber. C 60,48 H 7,61 N 11,76% Gef. C 60,60 H 7,73 N 11,66%

e) *3-Methylpentantriol-(1,2,5)* (***19***). Eine Lösung von 50 mg Verrucarinsäurelacton (**9**) in 2 ml Tetrahydrofuran und 5 ml Äther wurde bei 0° portionenweise zu einer Suspension von 100 mg $LiAlH_4$ in 20 ml Äther gegeben; dann wurde 2 Std. unter Rückfluss erwärmt. Das Gemisch wurde bei 0° vorsichtig mit 1N H_2SO_4 versetzt, bis beide Phasen klar waren, die ätherische Phase abgetrennt und die mit NaOH neutralisierte, wässerige Phase 20 Std. im KUTSCHER-STEUDEL-Apparat

mit Methylenchlorid extrahiert. Die organischen Phasen wurden vereinigt und im Vakuum eingedampft. Der Rohextrakt von 48 mg ergab durch Destillation im Molekularkolben bei 50–60° Badtemperatur/0,1 Torr 35 mg reines **19** als farblose Flüssigkeit. $[\alpha]_D^{22} = -12° \pm 1°$ ($c = 0{,}947$ in Aceton). Da sich das Triol nicht genügend trocknen liess, wurde auf eine Analyse verzichtet.

f) *Tri-1,2,5-(3,5-dinitrobenzoyloxy)-3-methyl-pentan* (***20***). Eine Lösung von 20 mg 3-Methylpentantriol-(1,2,5) (**19**) in 1 ml Pyridin wurde mit 120 mg 3,5-Dinitrobenzoylchlorid 30 Min. auf 90° erwärmt. Das Gemisch wurde im Vakuum vom Pyridin befreit, in Methylenchlorid-Äthanol-(9:1) aufgenommen, mit 2N Na_2CO_3, 2N HCl und Wasser gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und im Vakuum eingedampft. Aus dem Rohprodukt (30 mg) wurden nach dreimaligem Umkristallisieren aus Aceton-Äther 10 mg reines **20** in feinsten Nadeln vom Smp. 191–194° erhalten. Zur Analyse wurde 15 Std. bei 90° getrocknet.

$C_{27}H_{20}O_{18}N_6$ (716,5) Ber. C 45,26 H 2,81% Gef. C 45,15 H 3,06%

g) *HJO_4-Spaltung von 3-Methylpentantriol-(1,2,5)* (***19***). 6 mg 3-Methylpentantriol-(1,2,5) wurden in einem 20-ml-Messkolben in 5 ml Methanol gelöst, mit 2,5 ml 0,025N wässeriger HJO_4-Lösung versetzt, mit Wasser auf 20 ml aufgefüllt und bei 20° stehengelassen. Daneben wurde eine Blindprobe unter den gleichen Bedingungen angesetzt. Nach 23 Std. wurden die Lösungen mit je 0,5 ml 2N H_2SO_4 und ca. 0,2 g KJ versetzt und das ausgeschiedene Jod mit 0,020N wässeriger Natriumthiosulfat-Lösung zurücktitriert.

Blindprobe Ber. 24,9 ml, Gef. 24,9 ml; Substanzprobe Ber. für 1 Äquiv. JO_4-Verbrauch 20,5 ml Gef. 20,9 ml.

h) *Abbau von Verrucarinsäurelacton* (***9***) *mit $KMnO_4$*. Eine Lösung von 307 mg Verrucarinsäurelacton in 60 ml 1N wässeriger H_2SO_4 wurde bei 20° portionenweise unter Schütteln mit 1,1 g fein gepulvertem $KMnO_4$ versetzt (ca. 7 O-Äquiv.). Nach 6 Std. wurde das immer noch violett gefärbte Gemisch mit festem $NaHSO_3$ versetzt, bis die Lösung farblos und klar war, und 30 Std. mit Äther im KUTSCHER-STEUDEL-Apparat extrahiert. Der durch Eindampfen erhaltene farblose Rohextrakt lieferte aus Aceton-Äther-Petroläther 80 mg (R)-(+)-*Methylbernsteinsäure* (***21***) in farblosen Nadeln vom Smp. 112–114°; $[\alpha]_D^{22} = +9° \pm 1°$ ($c = 0{,}975$ in Wasser) (vgl. VON BRAUN & JOSBES [14]). IR.-Spektrum (KBr) u.a. Banden bei: 2670–2330, 1740–1710, 1420, 1245, 1190 cm^{-1}. Zur Analyse wurde 15 Std. bei 40° getrocknet.

$C_5H_8O_4$ (132,1) Ber. C 45,45 H 6,10% Gef. C 45,42 H 6,09%

i) (R)-(+)-*Methylbernsteinsäure-diamid* (***22***). Eine ätherische Lösung von 50 mg (*R*)-(+)-Methylbernsteinsäure (**21**), die aus Verrucarinsäurelacton (**9**) stammte, wurde zweimal mit frisch bereiteter ätherischer Diazomethanlösung bis zur bleibenden Gelbfärbung versetzt und sofort wieder im Vakuum eingedampft, wobei ca. 50 mg flüchtiger, fruchtig riechender (R)-(+)-*Methylbernsteinsäure-dimethylester* erhalten wurde, der nach Dünnschicht- und Gas-Chromatogramm[22]) identisch mit authentischem (±)-Methylbernsteinsäure-dimethylester war. Der rohe Ester wurde in 1 ml Methanol aufgenommen, mit 3 ml konz. NH_3 versetzt und 15 Std. bei 20° stehengelassen. Nach Eindampfen im Vakuum resultierten leicht gelb gefärbte Kristalle, die aus Methanol-Äther 20 mg reines (R)-(+)-*Methylbernsteinsäure-diamid* in farblosen Nadeln vom Smp. 228–230° (sublimiert ab 220°) ergaben. $[\alpha]_D^{22} = +3° \pm 1°$ ($c = 1{,}045$ in Methanol). IR.-Spektrum (KBr) u.a. Banden bei: 1670, 1630, 1410, 1210, 1140 cm^{-1}. Zur Analyse wurde 15 Std. bei 60° getrocknet.

$C_5H_{10}O_2N_2$ (130,15) Ber. C 46,14 H 7,74 O 21,53% Gef. C 46,16 H 7,94 O 21,28%

SUMMARY

The antibiotic verrucarine A ($C_{27}H_{34}O_9$) yields on base catalysed hydrolysis three products: 1) the sesquiterpene alcohol verrucarol ($C_{15}H_{22}O_4$) (**12**), 2) *cis,trans*-muconic acid ($C_6H_6O_4$) (**7**), and 3) verrucarinolactone ($C_6H_{10}O_3$) (**9**). The latter is the δ-lactone of the hitherto unknown *trans*-α,δ-dihydroxy-β-methyl-valeric acid (verrucarinic acid (**16**)). The absolute configuration of verrucarinolactone results from its

[22]) Gemessen mit einem Gas-Chromatographen «Aerograph» Master-A-100 der Fa. WILKENS, Berkeley, California. Verwendete Säule: Embacel mit 20% Siliconöl, Temp. 135°, He-Durchflussgeschwindigkeit: 15 ml/Min.

degradation to (*R*)-(+)-methylsuccinic acid (**21**). Verrucarinolactone is a new natural isomer of mevalolactone.

The hydrolysis of dehydroverrucarine A (**25**) reveals that in verrucarine A the three fragments are united to form a macrocyclic triester for which structure **1** is proposed. The presence of an eighteen-membered triester cycle in verrucarine A constitutes a novel structural type in the field of mold metabolites.

Institut für Organische Chemie
der Universität Basel

LITERATURVERZEICHNIS

[1] 4. Mitteilung: J. Gutzwiller, R. Mauli, H. P. Sigg & Ch. Tamm, Helv. *47*, 2234 (1964).
[2] E. Härri, W. Loeffler, H. P. Sigg, H. Stähelin, Ch. Stoll, Ch. Tamm & D. Wiesinger, Helv. *45*, 839 (1962).
[3] Ch. Tamm & J. Gutzwiller, Helv. *45*, 1726 (1962).
[4] B. M. Vittimberga, J. org. Chemistry *28*, 1786 (1963).
[5] Ch. Tamm, J. Gutzwiller, B. Böhner & E. Fetz, XIXth Internat. Congress of Pure and Applied Chemistry, London, 10.–17. July 1963, Abstracts A, p. 311.
[6] Methodik nach K. Bowden, I. M. Heilbron, E. R. H. Jones & B. C. L. Weedon, J. chem. Soc. *1946*, 39.
[7] G. V. D. Tiers, J. physical Chemistry *62*, 1151 (1958).
[8] C. Grundmann, Ber. deutsch. chem. Ges. *69*, 1756 (1936).
[9] J. A. Elvidge, R. P. Linstead, P. Sims & B. A. Orkin, J. chem. Soc. *1950*, 2235.
[10] J. A. Elvidge & L. M. Jackman, Proc. chem. Soc. *1959*, 89; E. O. Bishop & J. I. Musher, Molecular Physics *6*, 621 (1963).
[11] Vgl. J. Gutzwiller, Dissertation, Basel 1964.
[12] M. Karplus, J. chem. Physics *30*, 11 (1959).
[13] R. S. Cahn, C. K. Ingold & V. Prelog, Experientia *12*, 81 (1956).
[14] J. von Braun & F. Josbes, Ber. deutsch. chem. Ges. *59*, 1444 (1926); A. Fredga, Ark. Kemi *15 B*, Nr. 23, 1 (1942); K. Freudenberg & W. Hohmann, Liebigs Ann. Chem. *584*, 56 (1953).
[15] J. Hrbek, J. P. Jennings, W. Klyne & F. Šantavý, Collect. czechoslov. chem. Commun. *29*, 2822 (1964); J. P. Jennings, Biochem. J. *86*, 16P (1963).
[16] H. R. Skeggs, D. L. Wright, E. L. Cresson, G. D. E. MacRae, C. H. Hoffman, D. E. Wolf & K. Folkers, J. Bacteriol. *72*, 519 (1956).
[17] D. E. Wolf, C. H. Hoffman, P. E. Aldrich, H. R. Skeggs, L. D. Wright & K. Folkers, J. Amer. chem. Soc. *78*, 4499 (1956); L. D. Wright, E. L. Cresson, H. R. Skeggs, G. D. E. MacRae, C. H. Hoffman, D. E. Wolf & K. Folkers, *ibid. 78*, 5273 (1956); D. E. Wolf, C. H. Hoffman, P. E. Aldrich, H. R. Skeggs, L. D. Wright & K. Folkers, *ibid. 79*, 1486 (1957); M. Eberle & D. Arigoni, Helv. *43*, 1508 (1960) (Abs. Konfig.); R. H. Cornforth, J. W. Cornforth & G. Popják, Tetrahedron *18*, 1351 (1962).
[18] K. J. I. Thorne & E. Kodicek, Biochim. biophysica Acta *59*, 273 (1962).
[19] J. Gutzwiller & Ch. Tamm, Helv. *48*, 177 (1965).
[20] Ch. Tamm *et al.*, spätere Mitteilung.
[21] B. Böhner & Ch. Tamm, spätere Mitteilung.
[22] S. Abrahamsson & B. Nilson, Proc. chem. Soc. *1964*, 188; W. O. Godtfredsen & S. Vangedal, *ibid. 1964*, 188.
[23] G. G. Freeman & R. I. Morrison, Nature *162*, 30 (1948); Biochem. J. *44*, 1 (1949); G. G. Freeman & J. E. Gill, Nature *166*, 698 (1950).
[24] Vgl. T. Reichstein & C. W. Shoppee, Discuss. Farad. Soc. Nr. *7*, 305 (1949).
[25] Vgl. E. Stahl, «Dünnschichtchromatographie», Springer-Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg 1962; K. Randerath, «Dünnschichtchromatographie», Verlag Chemie, Weinheim 1962.
[26] Vgl. W. Simon & W. Tomlinson, Chimia *14*, 305 (1960); Ch. Chylewski & W. Simon, Helv. *47*, 515 (1964).

Curriculum vitae

Als Sohn des Dr. rer. pol. Alfred Gutzwiller, Spitaldirektor, und der Hedwig, geb. Stutz, wurde ich, JÜRG GUTZWILLER, am 29. August 1937 in Basel geboren. Ich besuchte in meiner Vaterstadt von 1944–1948 die Primarschule und von 1948–1956 das Humanistische Gymnasium. Nach der Matur immatrikulierte ich mich im Sommersemester 1956 an der Philosophisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität Basel und begann das Chemie-Studium. Bis im Frühjahr 1961 absolvierte ich die Nebenfachexamina in Physikalischer Chemie, Mineralogie und Pharmakologie sowie die Hausexamina in Anorganischer, Organischer und Farbenchemie. Im Sommersemester 1961 begann ich unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. Ch. Tamm meine Doktorarbeit.

Während meiner Studienzeit habe ich ca. 600 Tage Militärdienst geleistet.

Bei folgenden Herren Professoren und Dozenten habe ich Vorlesungen und Kurse besucht: P. Baertschi, P. Bearth, E. Bonjour, G. Bonalumi, M. Brenner, K. Bucher, P. Buchner, A. Ernst, H. Dahn, P. Diehl, H. Erlenmeyer, S. Fallab, M. Geiger-Huber, C. Grob, F. Grün, P. Huber, H. Labhart, A. Marxer, E. Miescher, M. Monnier, W. Kuhn, T. Reichstein, M. Staehelin, Ch. Tamm, E. Wenk und R. Wizinger.